

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
29. September 2005 (29.09.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2005/089727 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 9/50,
B01J 13/02

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/002810

(22) Internationales Anmeldedatum:
16. März 2005 (16.03.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2004 013 637.8 19. März 2004 (19.03.2004) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): CAPSULATION NANOSCIENCE AG [DE/DE];
Volmerstrasse 7b, 12489 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DÄHNE, Lars
[DE/DE]; Stillerzeile 3, 12587 Berlin (DE). BAUDE,
Barbara [DE/DE]; Schwielowseestr. 84c, 14548
Schwielowsee (DE).

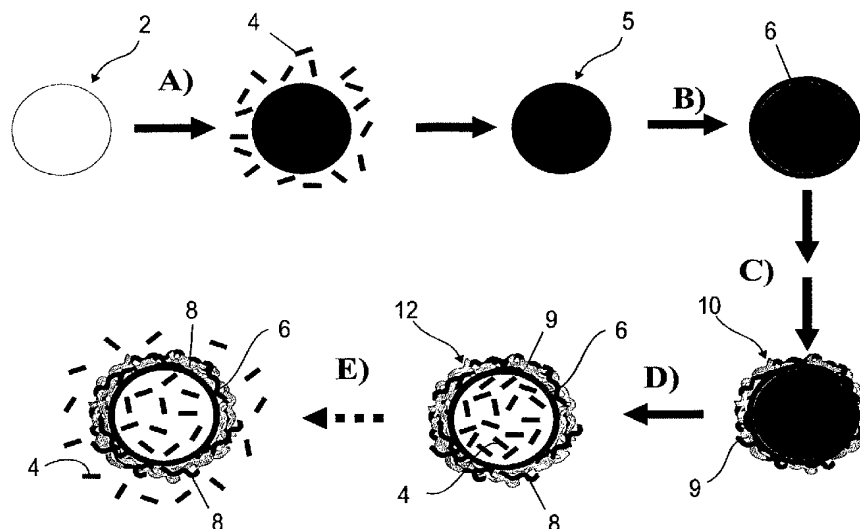
(74) Anwälte: LEIDESCHER, Thomas usw.; Zimmermann
& Partner, Postfach 330 920, 80069 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG,
PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR PRODUCING CS PARTICLES AND MICROCAPSULES USING POROUS TEMPLATES, CS PARTICLES AND MICROCAPSULES, AND THE USE THEREOF

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON CS-PARTIKELN UND MIKROKAPSELN UNTER VERWENDUNG PORÖSER TEMPLATE, CS-PARTIKEL UND MIKROKAPSELN SOWIE DEREN VERWENDUNG



(57) Abstract: The invention relates to a method for producing CS particles (10) and microcapsules (12). According to said method, (A) at least one active ingredient (4) is adsorbed into porous templates (2), forming templates (5) filled with active ingredients; (B) the templates (2) are then provided with a base layer (6) which simplifies the subsequent formation of the capsule envelope (9); (C) said capsule envelope is obtained by applying alternately charged polyelectrolyte layers (8), forming filled CS particles (10); (D) the active ingredients (4) are released into the microcapsule by subsequent dissolution of the templates (2); and (E) the active ingredients (4) remain enclosed in the microcapsule or are slowly released therefrom.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/089727 A1



(84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(57) **Zusammenfassung:** Es wird ein Verfahren zur Herstellung von CS-Partikeln (10) und Mikrokapseln (12) beschrieben, bei dem in poröse Template (2) zumindest ein Wirkstoff (4) adsorbiert wird (A), wodurch mit Wirkstoffen befüllte Template (5) vorliegen. Anschliessend werden die Template (2) mit einer Grundierungsschicht (6) versehen (B), welche den nachfolgenden Aufbau der Kapselhülle (9) erleichtern sollen. Die Kapselhülle wird durch Aufbringen alternierend geladener Polyelektrolytschichten (8) gebildet (C). Es werden gefüllte CS-Partikel (10) erhalten. Durch ein nachfolgendes Auflösen der Template (2) werden die Wirkstoffe (4) aus dem Templat in das Innere der Mikrokapsel freigesetzt (D). Dort bleiben die Wirkstoffe (4) eingeschlossen oder werden langsam aus der Kapsel freigesetzt (E).

**Verfahren zur Herstellung von CS-Partikeln und Mikrokapseln
unter Verwendung poröser Template, CS-Partikel und Mikrokapseln sowie
deren Verwendung**

5 Die Erfindung liegt auf dem Gebiet der Kolloidtechnik und betrifft ein Verfahren zur Herstellung von CS-Partikeln und gefüllten Mikrokapseln unter Verwendung poröser Template sowie CS-Partikel und Mikrokapseln

Mikrokapseln aus alternierend adsorbierten Polyelektrolytschichten (Layer by Layer, LbL) sind beispielsweise aus [1] bekannt und in DE 198 12 083 A1, DE 199 07 552 A1, EP 0 972 563 A1, WO 99/47252 und US 6,479,146 beschrieben, deren Offenbarungsinhalt hiermit vollständig aufgenommen wird. Derartige Kapselsysteme besitzen aufgrund ihrer einstellbaren Semipermeabilität ein hohes Anwendungspotential als Mikroreaktoren, Drug Delivery Systeme etc. Voraussetzung ist die Befüllung mit entsprechenden Wirkstoffen, Enzymen, Polymeren oder Katalysatoren.

Weiterhin sind Trennmembranen aus stoffdurchlässigen und mit Polyelektrolytschichten beschichteten Verbundwerkstoffen aus DE 100 31 281 A1 bekannt.

20

Bisher wurden überwiegend LbL-Mikrokapseln hergestellt, die im Inneren das gleiche Medium (Lösungsmittel) wie außerhalb aufweisen. Bei den meisten Anwendungen werden jedoch im Inneren funktionalisierte Makromoleküle benötigt, die dort permanent immobilisiert und in gelöster Form vorliegen sollen, um ihre Funktionalität zu erhalten. Die bekannten Verfahren zur Herstellung derartig befüllter Kapseln sind nur unter bestimmten Bedingungen einsetzbar. Speziell für empfindliche Biomoleküle treten Schwierigkeiten beim Befüllen nach den bekannten Methoden auf.

25

Bisher sind 4 Möglichkeiten zur Befüllung mit Makromolekülen entwickelt worden.

30

a) Ship in bottle synthesis^[2]

Monomere werden in Gegenwart von Kapseln polymerisiert. Die kleinen Initiator- und Monomermoleküle dringen in die Kapseln ein. Nach der

Polymerisation werden die in der Lösung synthetisierten Polymere gewegewaschen, wogegen die im Inneren der Kapseln entstandenen Polymere nicht mehr durch die Kapselwand diffundieren können und im Inneren immobilisiert sind. Diese Methode ist allerdings auf synthetische Moleküle
5 beschränkt.

b) Switching of the permability^[3,4]

Hierbei werden Kapseln verwendet, deren Permeabilität sich bei Änderung des pH-Werts oder der Ionenstärke der Lösung verändert. Die Kapseln werden zu
10 einer Lösung des Makromoleküls gegeben und durch Zugabe von Salz oder Änderung des pH-Werts in einen durchlässigen Zustand geschaltet. Nach dem Eindringen der Polymere wird der pH-Wert wieder zurückgeschaltet bzw. das Salz gewegewaschen und die Makromoleküle sind im Inneren immobilisiert. Der Nachteil liegt in der Notwendigkeit, spezielle, schaltbare Kapseln zu
15 verwenden. Weiterhin können bisher nur geringe Konzentrationen verkapselt werden.

c) Controlled precipitation^[5]

Bei dieser Methode wird die Füllung vor dem Aufbringen der LbL Schale auf
20 dem Templat präzipitiert. Dazu wird entweder eine geringe Löslichkeit in einem spezifischen Lösungsmittel oder eine Komplexierung des Makromoleküls mit einem Hilfsstoff ausgenutzt. Auf die Präzipitatschicht wird anschließend eine normale LbL Beschichtung aufgebracht. Das Templat wird aufgelöst. Durch Veränderung des Lösungsmittels oder die Zersetzung des
25 Komplexes wird das Makromolekül von der inneren Oberfläche der Kapseln in das Kapselinnere gelöst. Diese Methode muss für jedes Füllmaterial sehr spezifisch optimiert werden, was bisher nur an ausgewählten Beispielen gelungen ist. Häufig sind die Präzipitatschichten nicht homogen genug (raue Oberfläche) um eine gut definierte LbL Kapsel aufzubringen. Weiterhin muss
30 im Falle von Biopolymeren die Auflösung des Templates unter milden Bedingungen erfolgen, was bei den meist verwendeten Melamin-Formaldehyd- (pH 1), Erythrozyt- (pH 12, NaOCl) und Polystyrolpartikeln (Tetrahydrofuran) nicht der Fall ist.

d) Porous CaCO_3 templates^[9]

Bei diesem Ansatz werden poröse CaCO_3 Template verwendet. Die Template werden in Lösungen von abwechselnd geladenen Polyelektrolyten suspendiert. Dabei werden die äußere und die innere Oberfläche der porösen Template mit Polyelektrolyten beschichtet. Nach Auflösen des CaCO_3 Templat mit EDTA verbleiben Mikrokapseln mit einem inneren Gerüst aus Polyelektrolyten, das von einer nicht geschlossenen Polyelektrolythülle umgeben ist. An das innere Gerüst der Mikrokapseln lassen sich dann nachfolgend Makromoleküle anlagern. Mit diesem Verfahren lassen sich keine geschlossenen Kapselhülle herstellen, da die Poren der CaCO_3 Template relativ groß sind.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, ein Verfahren zum Verkapseln von Materialien bzw. Wirkstoffen anzugeben, bei dem die zu verkapselnden Wirkstoffe einfach und in hoher Konzentration im Inneren der Kapseln angereichert werden können.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch ein Verfahren zur Herstellung von CS-Partikeln und/oder Mikrokapseln mit den Schritten gelöst:

- zumindest ein zu verkapselnder Wirkstoff wird in porösen Templaten adsorbiert;
- eine Kapselhülle wird um die porösen Template durch Aufbringen von alternierend geladenen Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten gebildet.

Dadurch entstehen zunächst CS-Partikel, die noch das poröse Templat als Kern mit dem adsorbierten Wirkstoff enthalten. Nachfolgend kann das poröse Templat aus den CS-Partikeln herausgelöst werden, wobei Mikrokapseln entstehen, die mit dem Wirkstoff befüllt sind. Vor Bildung der Kapselhüllen kann zumindest eine Grundierungsschicht auf die porösen Template aufgebracht werden. Ggf. werden noch zusätzliche Schichten aus Polyelektrolyten und/oder Nanopartikeln vor der Bildung der eigentlichen Kapselhülle auf die Grundierungsschicht aufgebracht. Typischerweise werden die Kapselhüllen durch sequentielles Adsorbieren alternierend

geladener Polyelektrolyte hergestellt (sog. LbL-Verfahren). Typischerweise werden viele als kolloidale Lösung bereitgestellte Template gleichzeitig beschichtet, so dass jedes Templat mit einer Kapselhülle versehen wird. Im Ergebnis wird dann eine kolloidale Lösung von CS-Partikeln bzw. nach Auflösen der Template eine kolloidale Lösung von Mikrokapseln erhalten, die ggf. weiterbehandelt werden können.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden unter porösen Templaten solche Teilchen verstanden, die eine Vielzahl von Poren bzw. inneren Hohlräumen aufweisen. Nach dem Aufbringen der LbL Schichten und ggf. einer Grundierungsschicht auf die porösen Template werden Kern-Schale-(Core-Shell, CS)-Teilchen erhalten, welche als CS-Partikel bezeichnet werden. Nach dem Herauslösen des ursprünglichen porösen Templates existiert nur noch die Schale, d.h. die Kapselhülle ggf. mit innerer Grundierungsschicht, die im einfachsten Fall mit dem äußeren Lösungsmittel oder mit einer Lösung oder Suspension des eingeschlossenen Wirkstoffes gefüllt ist. Diese gefüllten Schalen werden als Kapseln bzw. Mikrokapseln bezeichnet. Die CS-Partikel bzw. Mikrokapseln sind mit dem Wirkstoff gefüllt, d.h. der Wirkstoff verbleibt in den CS-Partikeln bzw. Mikrokapseln, da die Kapselhülle als Diffusionsbarriere bezüglich des Wirkstoffs wirkt. Kolloidale Teilchen, die zur Befüllung der porösen Partikel oder zum Aufbau der LbL-Schale verwendet werden und daher im allgemeinen kleiner als 100 nm sind, werden als Nanopartikel bezeichnet.

Im Gegensatz zu den bekannten Methoden bietet die hier beschriebene Erfindung eine neue, einfache und generelle Methode zur Verkapselung von Materialien auch in hoher Konzentration in CS-Partikeln und Mikrokapseln (Layer by Layer Polyelektrolytkapseln). Mit Wirkstoffen befüllte LbL CS-Partikel und Mikrokapseln werden dabei mit Hilfe von porösen Templaten hergestellt. Dazu werden die porösen Template vor der LbL Beschichtung mit einem oder mehreren Wirkstoffen befüllt. Wird der Wirkstoff nur ungenügend in den Poren adsorbiert, können spezielle Hilfsstoffe (Mediatoren) oder pH Änderungen zur Verbesserung der Befüllung genutzt werden. Die befüllten Template werden mit einer speziellen Grundierung überzogen, die nicht in die Poren eindringt, sie jedoch für nachfolgende Beschichtungen abdichtet. Danach erfolgt der Aufbau der Kapselhülle oder -wand

über alternierende Adsorption von Polykationen und Polyanionen, wodurch ein gefülltes CS-Partikel entsteht. Für die Herstellung von Mikrokapseln können die porösen Template mit Lösungsmitteln entfernt werden. Speziell bei Silicapartikeln (SiO_2) kann dies unter milden Bedingungen oberhalb von pH 4 durchgeführt werden, um z.B. biologische Wirkstoffe zu schonen

Bei den verwendeten Templaten handelt es sich um poröse Mikropartikel, deren Größe bevorzugt kleiner als 100 μm ist. Die Mikropartikel weisen Poren mit beispielsweise einer Porenweite von 0,3 nm – 100 nm, bevorzugt von 1 nm – 30 nm und besonders bevorzugt von 6 nm – 10 nm auf. Bei vielen Anwendungsfällen kann die untere Grenze der Porenweite zwischen 1 nm und 6 nm, beispielsweise bei 2 nm oder 4 nm, und die obere Grenze der Porenweite zwischen 10 nm und 40 nm, beispielsweise bei 15 nm oder 30 nm, liegen. Grundsätzlich sollte die Porenweite so groß sein, dass die zu verkapselnden Wirkstoffe in die Poren eindringen und sich in den Poren ablagern können, d.h. insbesondere im Inneren der Poren adsorbieren. Bevorzugt sind daher poröse Template mit einer großen inneren Oberfläche, wobei die innere Oberfläche von den Innenwänden der Poren gebildet wird. Insbesondere sollte die effektiv für die Adsorption der Wirkstoffe zur Verfügung stehende innere Oberfläche groß sein. Unter effektiver innerer Oberfläche wird hier der Teil der Oberfläche verstanden, der für die Adsorption eines Wirkstoffs bestimmter Größe tatsächlich zur Verfügung steht. Da die Template häufig Poren mit verschiedener Weite aufweisen, können großmolekulare Wirkstoffe nur in entsprechend große Poren eindringen während für kleinere Moleküle auch die kleineren Poren zur Verfügung stehen. Daher kann die Porengröße auch über die Größe der Nanopartikel oder Moleküle bzw. deren Molekulargewicht beschrieben werden, die noch in die Poren eindringen können. Die untere Grenze des Molekulargewichts liegt bevorzugt bei 100 g/mol. Die obere Grenze entspricht einem Molekulargewicht von etwa 5×10^6 g/mol. Dabei spielt auch die Form des einzudringenden Moleküls (gestreckt oder geknäuel) eine wesentliche Rolle.

30

Weiterhin ist es möglich, dass die Oberfläche der Porenhohlräume durch mehrere Schichten von alternierend geladenen Polyelektrolyten und/oder Nanopartikeln bevorzugt mit der LbL-Technik beschichtet wird, d.h. es werden Polyelektrolyt-

und/oder Nanopartikelschichten an der "inneren" Oberfläche der porösen Template gebildet. Die Größe der Nanopartikel bzw. das Molekulargewicht der Polyelektrolyte ist an die Porenweite entsprechend angepasst. Nach der Auflösung der Template wird ein filigraner Negativabdruck der ursprünglichen Porenstruktur aus unlöslichen

5 Komplexen aus Polyelektrolytkomplexen und/oder Polyelektrolyt / Nanopartikelkomplexen (inneres Gerüst) erhalten, der die Kapseln mechanisch stabilisiert und ihre innere Oberfläche stark erhöht. Der zu verkapselnde Wirkstoff ist in diesem Fall das Material des inneren Gerüsts. Zusätzlich kann vor der Beschichtung oder nach der Auflösung des porösen Templates ein weiterer Wirkstoff in eingelagert

10 und/oder am inneren Gerüst angelagert (z.B. durch Präzipitation und/oder Adsorption) werden, der dann z.B. an das innere Gerüst gebunden ist. Vorteil eines inneren Gerüsts ist neben der mechanischen Stabilisierung eine deutliche Erhöhung der inneren Oberfläche der Mikrokapseln.

15 Weiterhin wird die Aufgabe durch CS-Partikel gelöst, mit

- einem Durchmesser kleiner als 100 μm ;
- einem porösen Kern in dem zumindest ein Wirkstoff adsorbiert ist; und
- einer Kapselhülle aus mehreren Schichten alternierend geladener Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten.

20

Bei dem porösen Kern handelt es sich um die beschriebenen porösen Template. Ggf. kann zwischen dem porösen Kern und der Kapselhülle eine Grundierungsschicht angeordnet sein, die den Kern umgibt und zur Verbesserung des Aufbaus der Kapselhülle beiträgt.

25

Weiterhin wird die Aufgabe durch Mikrokapseln gelöst, mit

- einem Durchmesser kleiner als 100 μm ;
- einer Kapselhülle aus mehreren Schichten alternierend geladener Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten;
- 30 - einer Grundierungsschicht an der Innenseite der Kapselhülle; und
- zumindest einem Wirkstoff, der im Inneren der Mikrokapseln eingeschlossen ist.

Bei diesen Mikrokapseln ist das poröse Templat bzw. der poröse Kern entfernt.

Es liegt weiter im Rahmen der Erfindung, Mikrotemplate mit den folgenden Schritten herzustellen:

- 5 - zumindest ein poröses Templat wird bereitgestellt;
- die Oberfläche der Porenhohlräume des porösen Templates wird mit mehreren Schichten von alternierend geladenen Polyelektrolyten und/oder Nanopartikeln beschichtet; und
- das poröse Templat wird aufgelöst, wobei ein Mikrotemplat bestehend aus den
- 10 Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten verbleibt.

Die Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten können ggf. vor oder nach dem Auflösen des Templates noch vernetzt werden (z.B. kovalent), um die Stabilität des Mikrotemplates zu erhöhen. Im Ergebnis liegt wieder ein filigranes Gerüst vor, dass

15 weitgehend einem negativen Abdruck der inneren Porenstruktur des Templates entspricht und hier das Mikrotemplat darstellt. Bei der Beschichtung der Porenoberfläche kann es natürlich auch vorkommen, dass an der Außenseite des Templates Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten gebildet werden, die auch nach dem Auflösen des Templates verbleiben. Je nach Größe der verwendeten

20 Polyelektrolyte und/oder Nanopartikel ist die so gebildete Hülle nur teilweise oder auch weitgehend vollständig aufgebaut. Die gebildeten Mikrotemplate können nun Ausgangspunkt für die Herstellung weiterer Mikropartikel sein, z.B. können Wirkstoffe am Gerüst angelagert werden. Die Mikrotemplate zeichnen sich durch

25 eine relative große Oberfläche bei kleinem Volumen aus und bieten daher viele Bindungsstellen für anzulagernde Wirkstoffe. Im Vergleich zu den Mikrokapseln mit innerem Gerüst wird bei den Mikrotemplaten nach dem Befüllen des Templates mit Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten keine Kapselhülle mit optionaler Grundierungsschicht gebildet. Die Herstellung der Mikrotemplate und der

30 Mikrokapseln mit innerem Gerüst kann jedoch mit gleichen Materialien und unter gleichen Bedingungen erfolgen. Die Größe der Mikrotemplate entspricht der Größe der verwendeten Template und liegt daher in dem weiter oben angegebenen Bereich.

Die hergestellten und mit dem Wirkstoff befüllten CS-Partikel und/oder Mikro kapseln können in vielen Bereichen vorteilhaft angewendet werden, beispielsweise

- zur Verkapselung von Stoffen in den Bereichen der Diagnostik, Sensorik; und/oder
- 5 - zur selektiven Akkumulation von Stoffen aus Lösungen für Anwendungen in der Wasserreinigung, Diagnostik, Nuklearchemie etc.; und/oder
- zum Einschluss katalytisch wirkender Stoffe insbesondere Metalle und/oder Metalloxide und/oder Enzyme zur Katalyse chemischer und biochemischer Reaktionen; und/oder
- 10 - zur Verkapselung von Nanopartikeln, insbesondere zur Herstellung fluoreszenter oder magnetischer Mikro kapseln, für diagnostische oder medizinische Anwendungen; und/oder
- zur Verkapselung und Freisetzung von Wirkstoffen in der pharmazeutischen und kosmetischen Industrie; und/oder
- 15 - zu Separationszwecken, z.B. in der Chromatographie; und/oder
- zu Anwendungen in der Nahrungsmittelindustrie und der Land- und Forstwirtschaft.

20 Weitere vorteilhafte Ausführungsformen der Erfindung, unabhängig davon, ob es sich um das Verfahren, die CS-Partikel oder Mikro kapseln handelt, werden nachfolgend anhand der Figuren beschrieben. Dabei zeigen:

- | | |
|------------------|---|
| Figur 1 | einzelne Verfahrensschritte des erfindungsgemäßen Verfahrens sowie die dabei erhaltenen CS-Partikel bzw. Mikro kapseln; |
| 25 Figur 2 | a) und b) CS-Partikel und c) Mikro kapseln mit einem verkapselten positiven Polymer; |
| Figur 3 | a) CS-Partikel und b) Mikro kapseln mit einem verkapselten negativen Polymer; |
| 30 Figur 4 | a) CS-Partikel und b) Mikro kapseln mit einem verkapselten zwitterionischen Protein; |
| Figur 5 | a und b) CS-Partikel sowie c und d) Mikro kapseln mit mehreren verkapselten Wirkstoffen; |

- Figur 6 a) Kapseln mit Nanopartikeln gefüllt b) Superparamagnetismus in mit Nanopartikeln befüllten Kapseln;
- Figur 7 a) und b) CS-Partikel sowie c) und d) Mikrokapseln mit einem PAH-Rho/PSS Komplexgerüst gefüllt; und
- Figur 8 Verfahrensschritte zur Herstellung von Mikrotemplateln.

Die einzelnen Verfahrensschritte werden anhand der Figur 1 erläutert. Bevorzugt werden kolloidale Partikel (Template) mit einer definierten Porosität verwendet, die mit den zu verkapselnden Materialien (im folgenden Wirkstoff genannt) in der gewünschten Konzentration befüllt werden können. Figur 1A zeigt das Befüllen mit einem Wirkstoff, der zu einem späteren Zeitpunkt permanent im Inneren immobilisiert ist oder bei entsprechender Wandpermeabilität dosiert freigesetzt wird. Dagegen ist in Figur 1B die Bildung einer Mikrokapsel mit innerem Gerüst dargestellt.

Der Wirkstoff kann jedes Material sein, welches sich

1. im Inneren von porösen Templateln akkumulieren lässt und
2. mit einer LbL Hülle über einen bestimmten Zeitraum zurückhalten lässt.

Die Wirkstoffe können molekular, aggregiert, als Komplex oder in kolloidaler Form vorliegen. Insbesondere handelt es sich bei den zu verkapselnden Wirkstoffen um Polymere und/oder Proteine und oder organische Moleküle mit Molekulargewichten über 100 g/mol und/oder Nanopartikel. Insbesondere kann es sich dabei um Enzyme und/oder Katalysatoren und/oder Farbstoffe und/oder pharmazeutische bzw. kosmetische Wirkstoffe und oder Pflanzenschutzmittel handeln. Die zu verkapselnden Wirkstoffe können eine unterschiedliche Affinität bzw. Bindungskonstante hinsichtlich der Ablagerung in den Poren aufweisen. Die Wirkstoffe besetzen die zur Verfügung stehenden Bindungsstellen an der inneren Oberfläche in Abhängigkeit von ihren Bindungskonstanten. Diese unterschiedliche Affinität kann beim Beladen der Template mit mehreren Wirkstoffen ausgenutzt werden.

Poröse Template 2 sind kolloidale anorganische und organische Partikel im für LbL Kapseln geeigneten Größenbereich zwischen 100 nm und 100 µm insbesondere

zwischen 500 nm und 15 μ m bzw. 30 μ m. Bevorzugt ist dabei eine möglichst geringe Verteilung der Porengröße dieser Template 2, d.h. die Poren sollten bevorzugt weitgehend die gleiche Porenweite aufweisen. Insbesondere poröse kolloidale Silicapartikeln und/oder Zeolithe und/oder organische Polymerpartikel eignen sich als
5 Template, da diese Partikel mit einer hinreichend schmalen Verteilung der Porenweite herstellbar sind. Poröse Zeolithpartikel weisen dabei eine Porenweite von insbesondere 0,3 nm bis 10 nm auf.

Befüllung der Template (Schritt A)

- 10 Die Befüllung der porösen Template 2 mit einem oder mehreren Wirkstoffen 4 kann durch attraktive Wechselwirkung vermittelt werden, beispielsweise durch Adsorption der in einer Lösung (beispielsweise ein wässriges Milieu) vorliegenden Wirkstoffe und Template 2 über elektrostatische und/oder H-Brückenbindungen und/oder spezifische Wechselwirkungen und/oder van der Waals Wechselwirkungen erfolgen.
- 15 Als Wirkstoffe können organische oder anorganische Materialien dienen, für die Layer by Layer Filme impermeabel oder wenig permeabel sind. Diese Materialien können gelöst, als Feststoffgerüst oder in kolloidaler Form als Nanopartikel vorliegen. Für die Adsorption in den porösen Templaten besonders geeignet sind elektrostatische Wechselwirkungen, da geladene Materialien zugleich eine gute äußere Oberfläche für
20 die nachfolgenden LbL Beschichtungsschritte bilden. Während die Befüllung mit Molekülen, die entgegengesetzt zur Poren- bzw. Templatoberfläche geladen sind, keine Schwierigkeiten bereitet, erfordern Materialien mit gleichsinniger Ladung eine besondere Behandlung. Dafür kommen insbesondere die drei nachfolgend genannten Varianten in Frage:
- 25 1. Durch die Verschiebung des pH-Wertes werden die Wirkstoffe selbst oder die Oberfläche des Templates umgeladen. Dadurch kommt es zu einer attraktiven Wechselwirkung. Insbesondere Biopolymere mit einem isoelektrischen Punkt können so relativ einfach in den Templaten adsorbiert werden.
- 30 2. Mittels geeigneter Hilfsstoffe (Mediatoren) wird die Adsorption der Wirkstoffe vermittelt. Die Hilfsstoffe können beispielsweise die Oberfläche der Poren umladen oder auch spezifische Wechselwirkungen zwischen den Wirkstoffen (z.B. Proteine, Peptide, weitere Wirkstoffe) und der Porenoberfläche ermöglichen. Die Verwendung von Hilfsstoffen erlaubt insbesondere eine

- Umladung von Oberflächen mit nachfolgender Adsorption der gleichsinnig geladenen Wirkstoffe. Derartige Hilfsstoffe können mehrfach, insbesondere 2-5 fach geladene Materialien sein (z.B. Metall³⁺ oder Polyamine (NR₄⁺)_n mit n = 2-5 oder SO₄²⁻, PO₄³⁻, R-(COO⁻)_n mit n = 2-5) die unter bestimmten Bedingungen (d.h. bei bestimmten pH-Werten und/oder Ionenstärken) einen Komplex mit dem zu adsorbierenden Material bilden und unter anderen Bedingungen (d.h. anderen pH-Werten und/oder Ionenstärken) wieder entfernt werden können.^[5]
3. Hilfsstoffe können auch Makromoleküle 14 (Figur 1B) mit einer Ladungszahl n>5 sein, die als gelöste Moleküle oder feste Gerüststrukturen in den Mikrokapseln verbleiben, nachdem die Kerne herausgelöst worden sind. Für die Präparation fester Gerüststrukturen werden LbL Strukturen in den Poren durch abwechselnde Adsorption vergleichsweise niedermolekularer Polyelektrolyte erzeugt. Die gebildeten Strukturen entsprechen einem Negativabdruck der vorhandenen Poren und lassen sich im Allgemeinen nachfolgend nicht mehr auflösen. Nach dem Herauslösen des ursprünglichen Templates bleiben sie als filigranes Geflecht oder inneres Gerüst 16 (Figur 1B) mit sehr großer Oberfläche im Inneren der Mikrokapseln zurück. Derartige Strukturen können zur mechanischen Stabilisierung von Mikrokapseln verwendet werden oder durch die große Oberfläche zur Akkumulation anderer Materialien oder für Katalysatoranwendungen dienen.

Sollen mehrere Wirkstoffe verkapselt werden, kann deren Adsorption nacheinander oder gleichzeitig erfolgen. Zur Befüllung mit den Wirkstoffen werden Porengrößen verwendet, die auf die Größe der zu befüllenden Moleküle abgestimmt sind. Insbesondere bei Silicapartikeln lassen sich Moleküle zwischen 0,1 und 5000 kDa (100 g/mol – 5 000 000 g/mol) in Porengrößen von 4 bis 30 nm einlagern. Es können auch mehrere Wirkstoffe bei vergleichbaren Bindungskonstanten simultan oder bei unterschiedlichen Bindungskonstanten sequentiell eingelagert werden. Dabei wird der Wirkstoff mit der höheren Bindungskonstante im Unterschuß befüllt, d.h. dessen Konzentration wird so gewählt, dass dieser Wirkstoff nicht alle zur Verfügung stehenden Bindungsstellen besetzt. Danach werden die unvollständig gefüllten Partikel mit dem 2. Wirkstoff in einer Lösung durch Adsorption aufgefüllt. Im

Ergebnis sind die Template 4 weitgehend mit dem oder den Wirkstoff(en) 4 aufgefüllt.

Grundierung (Schritt B)

- 5 Auf die nun gefüllten Template 5 wird optional eine Grundierungsschicht 6 aus beispielsweise einem Polyelektrolyt oder aus Nanopartikeln aufgebracht. Das Grundierungsmaterial ist so auszuwählen und anzupassen, dass es

1. selbst nicht in die gefüllten Poren eindringt,
 2. ein Eindringen der beim nachfolgenden Aufbau der LbL Kapselhülle
- 10 verwendeten Materialien ins Innere verhindert

Besonders geeignet sind hochmolekulare oder/und verzweigte Polyelektrolyte sowie Nanopartikel, die an die Größe der Poren angepasst sind. Das Grundierungsmaterial 6 unterscheidet sich typischerweise von den nachfolgend aufzubringenden Materialien der Hülle. Ggf. kann es sich auch um einen

15 Polyelektrolyt handeln, der jedoch ein höheres Molekulargewicht und/oder eine verzweigtere Struktur und/oder eine bessere Vernetzung als die LbL Kapselhüllmaterialien aufweist. Dafür kann ein extra Vernetzungsschritt z.B. über Glutaraldehyd bei aminofunktionalisierten Polyelektrolyten durchgeführt werden.

20 Beschichtung (Schritt C)

Anschließend werden auf diese Grundierungsschicht 6 alternierende Schichten 8 aus kationisch und anionisch geladenen Stoffen (Polyelektrolyte), bevorzugt Polymere, aufgebracht, bis die gewünschte Semi- oder Impermeabilität der LbL Kapselwand 9 für den eingeschlossenen Stoff erreicht ist. Die Permeabilität der LbL Kapsel kann

25 dabei durch die Schichtzahl, die Auswahl des Materials, durch eine Nachbehandlung mittels Annealing, oder durch Implementierung von weiteren Stoffen in die Kapselwand^[8] für das jeweilige verkapselte Material speziell eingestellt werden. Nach dem Aufbau der Kapselwand liegen CS-Partikel 10 mit einem gefüllten porösen Kern vor. Geeignete Stoffe zur Bildung der Kapselwand sowie eine geeignete

30 Verfahrensabläufe lassen sich den bereits genannten Dokumenten DE 198 12 083 A1, DE 199 07 552 A1, EP 0 972 563 A1, WO 99/47252 und US 6,479,146 entnehmen.

Auflösen der Kerne (Schritt D)

Eine nachfolgende optionale Auflösung der Kerne (Template) aus den CS-Partikeln 10 erfolgt mit einem geeigneten Lösungsmittel. Die Produkte der Auflösung werden durch Waschen mit dem Lösungsmittel und Wasser aus dem Kapselinneren entfernt, wobei der eingefüllte Wirkstoff 4 mit größerem Molekulargewicht im Inneren zurückbleibt. Lösungsmittel können im Falle der organischen Template organische Flüssigkeiten wie z.B. bei Polystyrol Tetrahydrofuran, oder saure oder basische wässrige Lösungen sein, wie z.B. bei Melaminformaldehydharzen HCl ^[6]. Insbesondere Silicapartikel lassen sich gut mit 1mol/l HF auflösen, da die entstehenden Produkte (SiF_6^{2-}) leicht durch die Kapselmembran nach außen 10 diffundieren, ohne die Kapselwand zu schädigen.^[7] 1 molare HF ist jedoch für viele Materialien nicht unproblematisch.

Daher ist insbesondere für empfindliche Wirkstoffe oder empfindliche Kapselwandmaterialien eine schonende Auflösung der Silicatemplate bei pH Werten 15 von 3-6,5 bevorzugt. Dabei wird ein Fluoridsalz mit einer Konzentration von 1-5 mol/l mit einer Pufferlösung 1-5 mol/l auf einen gewünschten pH von 3 – 6 eingestellt. In dieser Reaktionsmischung lösen sich insbesondere poröse Silicatemplate bei genügender Reaktionszeit rückstandslos auf. Die Hexafluorosilikatanionen diffundieren problemlos auch durch dicke LbL Schichten 20 aus den Kapseln heraus. Der bevorzugte pH-Wertbereich erstreckt sich von 3 oder 3,5 (untere Grenze) bis zu 6 oder 6,5.

Die beschriebene Methode zum Auflösen der Template kann unabhängig davon, ob es sich um poröse oder nichtporöse Mikropartikel handelt, verwendet werden und eignet 25 sich insbesondere zum Auflösen von porösen und nicht porösen Silica- und Zeolithpartikeln. Diese Methode ist darüber hinaus grundsätzlich zum Auflösen derartiger Materialien geeignet, wobei diese Materialien im pH-Bereich von 3,5 bis 6 durch Fluoridsalze unter Anwesenheit von Pufferlösung, insbesondere eines Acetat/Essigsäurepuffers, aufgelöst werden. Diese Lösungsmethode eignet sich 30 besonders für säureempfindliche Materialien, die entweder die Kapselwand bilden oder im Inneren eingeschlossen sind. Das betrifft viele Biopolymere wie z.B. Proteine, Enzyme, DNA, aber auch säureempfindliche Polymere oder Nanopartikel, wie z.B. Magnetit oder Quantum Dots (fluoreszierende Nanopartikel).

Optionales Freisetzen des Wirkstoffs (Schritt E)

Nach dem Entfernen des Templates liegen mit einem Wirkstoff befüllte Mikrokapseln 12 (Figur 1A) oder mit einem inneren Gerüst 16 versehene Mikrokapseln 13 vor. Je
5 nach der eingestellten Permeabilität der Kapselwand und der Größe der eingeschlossenen Wirkstoffe bleiben die Wirkstoffe permanent im Inneren der Mikrokapseln immobilisiert oder werden innerhalb eines definierten Zeitraumes freigesetzt.

10 Beispiele

1. Positiv geladenes Polymer: 10 mg von sphärischen, porösen Silicatemplaten mit einem Durchmesser von 10 μm und einer Porengröße von 7 nm werden in 100 μL Wasser suspendiert (pH 6,5). Dazu werden 500 μL einer Lösung von 1 g/l Rhodamin gelabeltes Polyallylamin (PAH-Rho; PAH = Poly(allylamine hydrochloride)) mit
15 einem Molekulargewicht von 70 000 g/mol gegeben und 12 h inkubiert. Der Überstand wird mit Pufferlösung gewaschen. Sodann wird eine Lösung Fluorescein gelabeltes Chitosan (Chitosan-Flu) mit einem Molekulargewicht > 300 000 g/mol in 0,5 mol/l NaCl zu den Templaten gegeben und an der Oberfläche adsorbiert. Wie die konfokale Aufnahme zeigt, bildet es eine homogene Schicht an der
20 Oberfläche und dringt kaum in die Template ein (Figur 2b). Nach der Grundierung werden alternierend 7 Schichten von PSS (Poly(sodium 4-styrenesulfonate)) und PAH mit Lösungen von 1 g/l Polymer in 0,5 mol/l Salz aufgebracht. Zwischen den Beschichtungsschritten wird 3 Mal mit Wasser gewaschen. Eine Analyse der erhaltenen CS-Partikel ergab im Inneren eine Konzentration von 7 g/l PAH-Rho
25 (Figur 2a). Die Konzentrationen der Wirkstoffe im Inneren der CS-Partikel/Kapseln wurden mit der konfokalen Mikroskopie anhand von Vergleichslösungen über die Fluoreszenz bestimmt. Dabei kann die hohe Konzentration an Farbstoff im Inneren der Kapseln zu Self-Quenching führen, was geringere Konzentrationen vortäuscht.

30 Die CS-Partikel wurden mit 100 mL einer Lösung von 2 mol/l Natriumfluorid in 1 mol/l Acetatpuffer (pH 4) inkubiert. Nach 3 h haben sich die Template (Kerne) vollständig aufgelöst und die mit PAH gefüllten Kapseln bleiben zurück (Figur 2c). Nach mehreren Waschzyklen mit Wasser wurde im Inneren der Kapseln eine

Konzentration von 6,3 g/l PAH-Rho bestimmt, die sich bei mehrwöchiger Lagerung nicht mehr veränderte.

Figur 2 zeigt hergestellte CS-Partikel und Kapseln mit positiv geladenem Polymer im Inneren; a) konfokales Bild von mit PAH-Rho befüllten CS-Partikeln, die mit Chitosan-Flu grundiert und mit 7 Schichten PAH/PSS beschichtet sind (Rhodaminkanal PMT2 600 V, Bildgröße 80 μm x 80 μm); b) konfokales Bild der CS-Partikel (Fluoresceinkanal PMT1 750 V, Bildgröße 80 μm x 80 μm); c) konfokales Bild von mit PAH-Rho befüllten Kapseln Chitosan(PSS/PAH)₃PSS nach Herauslösen des SiO₂ Templates (Rhodaminkanal PMT2 600V, Bildgröße 80 μm x 80 μm).

2. Negativ geladenes Polymer: 10 mg von sphärischen, porösen Silicatemplate mit einem Durchmesser von 10 μm und einer Porengröße von 7 nm werden in 100 μL Wasser suspendiert (pH 6,5). Anschließend werden die Template in einer 0,1 mol/l Lösung von FeCl₃ inkubiert. Nach drei Waschzyklen mit Wasser wurden 500 μL einer Lösung von 1 g/l Rhodamin gelabeltes Polystyrolsulfonat (PSS, MW 130 000 g/mol Capsulation Nanoscience AG) zugegeben und 12 h inkubiert. Das anionisch geladene PSS-Rho hat sich über das Fe³⁺ an der Oberfläche der Poren adsorbiert. Der PSS Überstand wird mit Wasser gewegewaschen. Sodann wird eine Lösung von Chitosan-Flu mit einem Molekulargewicht > 300 000 g/mol in 0,5 mol/l NaCl zu den Templaten gegeben und an der Oberfläche adsorbiert. Nach der Grundierung werden alternierend 7 Schichten von PSS und PAH mit Lösungen von 1 g/l Polymer in 0,5 mol/l Salz aufgebracht. Zwischen den Beschichtungsschritten wird 3 Mal mit Wasser gewaschen. Im Inneren der so erhaltenen CS-Partikel wurde danach eine Konzentration von 2,3 g/l PSS-Rho bestimmt (Figur 3a). An der Wand ist die Konzentration an PSS besonders hoch, was auf eine verstärkte Adsorption an der inneren Oberfläche der Chitosangrundierung zurückzuführen ist. Die Silicatemplate werden mit 100 mL einer Lösung von 2 mol/l Natriumfluorid in 1 mol/l Acetatpuffer pH 4 herausgelöst. Nach 3 h haben sich die Template vollständig aufgelöst und die mit PSS gefüllten Kapseln bleiben zurück (Figur 3b). Im Inneren der Kapseln wurde eine Konzentration von 1,8 g/l PSS-Rho bestimmt, die bei mehrwöchiger Lagerung geringfügig abnahm.

Figur 3 zeigt hergestellte Kapseln mit negativ geladenem Polymer im Inneren; a) konfokales Bild von mit PSS-Rho befüllten CS-Partikeln, die Chitosan(PSS/PAH)₃PSS beschichtet sind (Rhodaminkanal PMT2 800 V, Bildgröße 80 µm x 80 µm); b) Konfokales Bild von mit PSS-Rho befüllten Kapseln aus Chitosan(PSS/PAH)₃PSS nach Herauslösen des SiO₂ Templates (Rhodaminkanal PMT2 850 V, Bildgröße 80 µm x 80 µm).

3. Zwitterionisches Protein Albumin

10 mg von sphärischen, porösen Silicatemplatten mit einem Durchmesser von 10 µm und einer Porengröße von 7 nm werden in 100 µL Wasser suspendiert (pH 6,5). Dazu werden 500 µL einer Lösung von 1 g/l Rhodamin gelabeltes Rinderserum-Albumin (TRITC-BSA, Sigma; BSA = Bovine Serum Albumin) in Acetat-Puffer (0,1 M, pH 5) gegeben und 12 h inkubiert. Der Überstand wird mit Pufferlösung gewaschen, im Inneren der Template hat sich das Albumin deutlich akkumuliert. Sodann wird eine Lösung Chitosan-Flu mit einem Molekulargewicht > 300 000 g/mol in 0,5 mol/l NaCl zu den Templates gegeben und an der Oberfläche adsorbiert. Nach der Grundierung werden alternierend 7 Schichten von PSS und PAH mit Lösungen von 1 g/l Polymer in 0,5 mol/l Salz aufgebracht. Zwischen den Beschichtungsschritten wird 3 Mal mit Wasser gewaschen. Im Inneren der erhaltenen CS-Partikel wurde eine Konzentration von 1,2 g/l BSA bestimmt (Figur 4a). Die Silicatemplate wurden in 100 mL einer Lösung von 2 mol/l Natriumfluorid in 1 mol/l Acetatpuffer bei einem pH von 5 herausgelöst. Nach 12 h haben sich die Template vollständig aufgelöst und die mit Albumin gefüllten Kapseln bleiben zurück (Figur 4b). Im Inneren der Kapseln wurde eine Konzentration von 1,4 g/l BSA bestimmt, die sich bei mehrwöchiger Lagerung nicht veränderte. Der höhere Wert in den Kapseln im Vergleich zu den CS-Partikeln resultiert entweder aus einer Abnahme des beim ersten Beispiel erwähnten Self-Quenchings oder aus einer Ablösung des BSA von der Wand ins Innere.

Figur 4 zeigt hergestellte Kapseln mit Protein im Inneren; a) konfokales Bild von mit BSA-Rho (BSA mit Rhodamin markiert) befüllten CS-Partikeln, die mit Chitosan(PSS/PAH)₃PSS beschichtet sind (Rhodaminkanal PMT 850V, Bildgröße 80 µm x 80 µm); b) Konfokales Bild von mit BSA-Rho befüllten Kapseln aus

Chitosan(PSS/PAH)₃PSS nach dem Herauslösen des SiO₂ Templates (Rhodaminkanal PMT 900 V, Bildgröße 80 µm x 80 µm).

4. Sequentielle Einlagerung von 2 verschiedenen Wirkstoffen

- 5 10 mg von sphärischen, porösen Silicatemplaten mit einem Durchmesser von 10 µm und einer Porengröße von 7 nm werden in 100 µL Wasser suspendiert (pH 6,5). Dazu werden 100 µL einer Lösung von 1 g/l mit Rhodamin gelabeltes Polyallylamin (PAH) mit einem Molekulargewicht von 70 000 g/mol gegeben und 12 h inkubiert. Das kationisch geladene PAH-Rho hat sich im Inneren der Partikel akkumuliert. Im
- 10 Überstand befindet sich kein PAH mehr. Im nächsten Schritt wird eine Lösung von 500 µL Fluorescein gelabeltes Chitosan mit einem Molekulargewicht von 50 000 – 300 000 g/mol zu den Partikeln gegeben und weitere 12 h inkubiert. Nach dem Wegwaschen des Chitosanüberstandes wird eine Lösung von Chitosan mit einem Molekulargewicht > 300 000 g/mol in 0,5 mol/l NaCl zu den Partikeln gegeben und
- 15 an der Oberfläche adsorbiert. Nach der Grundierung werden alternierend 7 Schichten von PSS und PAH mit Lösungen von 1 g/l Polymer in 0,5 mol/l Salz aufgebracht. Zwischen den Beschichtungsschritten wird 3 Mal mit Wasser gewaschen. Wie die konfokalen Aufnahmen zeigen (Figur 5a,b), befinden sich im Inneren der CS-Partikel 2,5 g/l PAH-Rho sowie 7 g/l niedermolekulares Chitosan-Flu. Die Silicatemplate
- 20 wurden mit 100 mL einer Lösung von 2 mol/l Natriumfluorid in 1 mol/l Acetatpuffer pH 4 herausgelöst. Nach 3 h haben sich die Template vollständig aufgelöst und die mit PAH und Chitosan gefüllten Kapseln bleiben zurück (Figur 5c,d). Im Inneren der Kapseln wurden Konzentrationen von 1,7 g/l PAH-Rho und von 7 g/l Chitosan-Flu bestimmt, die sich bei mehrwöchiger Lagerung nicht veränderten.

25

- Figur 5 zeigt konfokale Bilder von CS-Partikeln und Kapseln, die mit 2 positiv geladenen Polymeren PAH-Rho und niedermolekulares Chitosan-Flu gefüllt und mit Chit(PSS/PAH)₃PSS verkapselt sind; a) CS-Partikel im Rhodaminkanal PMT2 600 V, Bildgröße 80 µm x 80 µm; b) CS-Partikel im Fluoresceinkanal PMT1 500 V,
- 30 Bildgröße 80 µm x 80 µm; c) Kapseln im Rhodaminkanal PMT2 700 V, Bildgröße 80 µm x 80 µm, d) Kapseln im Fluoresceinkanal PMT1 550 V, Bildgröße 80 µm x 80 µm

5. Befüllung mit Nanopartikeln

10 mg von sphärischen, porösen Silicatemplaten mit einem Durchmesser von 10 μm und einer Porengröße von 10 nm werden in 100 μL Wasser suspendiert (pH 6,5). Dazu werden 100 μL einer Lösung von 1 g/l positiv geladener Magnetit-Nanopartikel mit einem Durchmesser von 5-10 nm in einer Acetatpufferlösung pH 5,2 gegeben. Nach 12 h Inkubation wird der Überstand gewegewaschen. Die porösen Template zeigen eine deutliche superparamagnetische Aktivität. Eine Lösung von Chitosan mit einem Molekulargewicht $> 300\,000$ g/mol in 0,5 mol/l NaCl wird zu den Templaten gegeben und an der Oberfläche adsorbiert. Nach der Grundierung werden alternierend 7 Schichten von PSS und PAH mit Lösungen von 1 g/l Polymer in 0,5 mol/l Salz aufgebracht. Zwischen den Beschichtungsschritten wird 3 Mal mit Wasser gewaschen. Nach der Beschichtung hat sich die magnetische Aktivität nicht verändert. Die Silicatemplate wurden mit 100 mL einer Lösung von 2 mol/l Natriumfluorid in 1 mol/l Acetatpuffer pH 4,5 herausgelöst. Nach 12 h haben sich die Template vollständig aufgelöst und die mit Magnetit gefüllten Kapseln bleiben zurück (Figur 6a). Die magnetische Aktivität verringerte sich während der Auflösung kaum (Fig. 6b).

Figur 6 a zeigt konfokale Bilder von Kapseln, die mit positiv geladenen Magnetit-Nanopartikeln gefüllt und mit Chit(PSS/PAH)₃PSS verkapselt sind (80 μm x 80 μm). Figur 6b zeigt, wie die Kapseln in einem Eppendorf-Röhrchen mittels eines Magneten an der Oberseite gesammelt werden können.

6. Mikrokapseln mit einem festen Strukturgerüst im Inneren

10 mg von sphärischen, porösen Silicatemplaten mit einem Durchmesser von 10 μm und einer Porengröße von 10 nm werden in 100 μL Wasser suspendiert (pH 6,5). Dazu werden 100 μL einer Lösung von 1 g/l mit Rhodamin gelabeltes Polyallylamin (PAH) mit einem Molekulargewicht von 15 000 g/mol in 0,5 mol/l NaCl gegeben und 60 min unter zeitweiliger Anwendung von Ultraschall inkubiert. Das kationisch geladene PAH-Rho hat sich im Inneren der Partikel akkumuliert. Der Überschuss an PAH-Rho wird gewegewaschen. Danach wird mit PSS 20 000 g/mol in 0,5 mol/l Salz inkubiert und der Überstand gewegewaschen. Dieses Verfahren wird 4 mal durchgeführt (8 Schichten). Danach wird eine Lösung von Chitosan mit einem

Molekulargewicht > 300 000 g/mol in 0,5 mol/l NaCl zu den Partikeln gegeben und an der Oberfläche adsorbiert. Nach der Grundierung werden alternierend 7 Schichten von PSS und PAH 70 000 (mit dem Farbstoff Cy5 gelabelt) mit Lösungen von 1 g/l Polymer in 0,5 mol/l Salz aufgebracht. Zwischen den Beschichtungsschritten wird mit
5 Wasser gewaschen. Wie die konfokalen Aufnahmen zeigen (Figur 7a,b) befindet sich im Inneren der CS-Partikel PAH-Rho, während das Cy5 gelabelte PAH die Hülle bildet. Als Konzentration wurde 21,5 g/l PAH-Rho bestimmt. Die Silicatemplate wurden mit 100 mL einer Lösung von 2 mol/l Natriumfluorid in 1 mol/l Acetatpuffer pH 4 herausgelöst. Nach 3 h haben sich die Template vollständig aufgelöst und die
10 mit dem PSS/PAH-Rho gefüllten Kapseln bleiben zurück (Figur 7c). Im Inneren der Kapseln wurden Konzentrationen von 16,9 g/l PAH-Rho bestimmt, die wegen des in dem Komplexgerüst auftretenden Selfquenchings garantiert deutlich höher sind. Im Gegensatz zu den herkömmlichen Kapseln kollabieren diese Kapseln durch das stabile Gerüst beim Trocknen nicht (Figur 7d,e). Weiterhin wurde die Ortsstabilität des
15 filigranen Gerüsts im Inneren durch das Bleichen von Bereichen (2 Punkte links und rechts vom Zentrum) und nachfolgendes Scannen mit dem konfokalen Mikroskop nachgewiesen (Figur 7 c).

Figur 7 zeigt konfokale Bilder von CS-Partikeln und Kapseln die mit einem PAH-Rho/PSS Komplex gefüllt und mit Chit(PSS/PAH)₃PSS umhüllt sind a) CS-Partikel
20 im Rhodaminkanal PMT2 600 V, Bildgröße 40 µm x 40 µm; b) CS-Partikel im Cy5 Kanal PMT1 500 V, Bildgröße 40 µm x 40 µm; c) Kapsel im Rhodamin- und Cy5 Kanal überlagert, in die Kapsel wurden mit hoher Laserleistung 2 Löcher gebrannt, die orts-stabil sind, Bildgröße 40 µm x 40 µm, d) Kapseln nach Beispiel 1 hergestellt
25 (PAH-Rho befüllt) nach dem Trocknen, Bildgröße 40 µm x 40 µm e) Kapseln mit PAH-Rho/PSS Gerüst nach dem Trocknen, Bildgröße 40 µm x 40 µm

Figur 8 zeigt einzelne Verfahrensschritte zur Herstellung von Mikrotemplaten 16, die hier aus einem filigranen Gerüst von Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten
30 14 besteht. Dazu werden poröse Template 2 mit alternierend geladenen Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten 14 befüllt, d.h. diese Materialien beschichten die innere Oberfläche (Porenoberfläche) der Template 2 und ggf. auch die äußere Oberfläche der Template. Nach dem Auflösen der Template 2 bleiben

Mikrotemplate 16 zurück, die von teilweise bzw. weitgehend geschlossenen Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten umgeben sein können.

Bezugszeichenliste

5		
	2	poröses Templat
	4	Wirkstoff
	5	mit Wirkstoff befülltes Templat
	6	Grundierungsschicht
10	8	Schichten der Kapselhülle
	9	Kapselhülle
	10	CS-Partikel
	12, 13	Mikrokapsel
	14	Polyelektrolyte / Nanopartikel
15	16	inneres Gerüst / Mikrotemplat

Literatur

- [1] E. Donath, G. B. Sukhorukov, F. Caruso, S. A. Davis, H. Möhwald, *Angewandte Chemie-International Edition* **1998**, 37, 2202-2205.
- [2] L. Dähne, S. Leporatti, E. Donath, H. Möhwald, *Journal of the American Chemical Society* **2001**, 123, 5431-5436.
- [3] A. A. Antipov, G. B. Sukhorukov, S. Leporatti, I. L. Radtchenko, E. Donath, H. Möhwald, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2002**, 198, 535-541.
- [4] G. Ibarz, L. Dähne, E. Donath, H. Möhwald, *Advanced Materials* **2001**, 13, 1324-1327.
- [5] I. L. Radtchenko, G. B. Sukhorukov, H. Möhwald, *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* **2002**, 202, 127-133.

- [6] H. Möhwald, E. Donath, G. Sukhorukov in *MultilayerThin Films* (Ed.: J. B. Schlenoff), Wiley VCH, New York / Basel, **2003**, pp. 363-391.
- [7] L. Dähne, C. Peyratout in *Encyclopaedia of Nanoscience and Nanotechnology* Marcel Dekker, Inc., New York **2004**
- 5 [8] D. G. Shchukin, G.B. Sukhorukov, H. Möhwald *Angewandte Chemie - International Edition* **2003**, 42, 4472-4475.
- [9] D.V. Volodkin, A. I. Petrov, M. Prevot, G. B. Sukhorukov, *Langmuir* **2004**, 20, 3398-3406.

Ansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von CS-Partikeln und/oder Mikrokapseln mit den Schritten:

- 5 - poröse Template (2) werden bereitgestellt, wobei es sich bei den Templaten (2) um poröse organische und/oder anorganische Mikropartikel mit einem Durchmesser kleiner als 100 µm handelt;
- zumindest ein zu verkapselnder Wirkstoff (4) wird in den porösen Templaten (2) adsorbiert;
- 10 - zumindest eine Grundierungsschicht (6) wird auf die porösen Template (2) aufgebracht; und
- eine Kapselhülle (8) wird um die mit der Grundierungsschicht (6) versehenen porösen Template (2) durch Aufbringen von alternierend geladenen Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten auf die porösen Template
- 15 gebildet,
- wobei die Grundierungsschicht (6) aus einem Material gebildet wird, das die Poren der porösen Template (2) verschließt und für die zur Herstellung der Kapselhülle verwendeten Beschichtungsmaterialien weitgehend undurchlässig ist.

20

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die porösen Template (2) Poren mit einer Porenweite von 0,3 nm – 100 nm und bevorzugt von 1 nm – 30 nm aufweisen.

25 3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Templaten (2) um poröse Silicapartikel und/oder um poröse Zeolithpartikel und/oder um poröse Polystyrolpartikel handelt.

30 4. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die porösen Silicapartikel im Größenbereich von 100 nm bis 100 µm und bevorzugt von 500 nm bis 30 µm liegen.

5. Verfahren nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass die porösen Zeolithpartikel eine Porenweite von 0,3 nm bis 10 nm aufweisen.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,
5 dass es sich bei dem zumindest einen zu verkapselnden Wirkstoff (4) um zumindest ein Polymer und/oder Protein und/oder organisches Molekül mit einem Molekulargewicht über 100 g/mol und/oder Nanopartikel und insbesondere um ein Enzym und/oder Katalysator und/oder Farbstoff und/oder pharmazeutischen bzw. kosmetischen Wirkstoff handelt.
- 10 7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein Hilfsstoff zur Vermittlung der Adsorption des zumindest einen Wirkstoffes (4) verwendet wird.
- 15 8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass als Wirkstoff Polyelektrolyte und/oder Nanopartikel verwendet werden und dass die Oberfläche der Porenhohlräume durch mehrere Schichten von alternierend geladenen Polyelektrolyten und/oder Nanopartikeln beschichtet wird.
- 20 9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die porösen Template (2) in einer Lösung bereitgestellt werden und zusätzlich oder alternativ zum Hilfsstoff durch Änderung des pH-Werts der Lösung die Adsorption des zumindest einen Wirkstoffes (4) gesteuert wird.
- 25 10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die porösen Template (2) nach Bildung der Kapselhülle (8) aufgelöst werden und dadurch die Mikrokapseln entstehen.
- 30 11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Silica- und/oder Zeolithtemplate durch Fluoridsalze in Gegenwart einer Pufferlösung mit einem pH-Wert zwischen 3,5 und 6 aufgelöst werden.
12. CS-Partikel mit

- einem Durchmesser kleiner als 100 μm ;
 - einem porösen Kern (2) in dem zumindest ein Wirkstoff (4) adsorbiert ist;
 - einer Grundierungsschicht (6), die den porösen Kern (2) umgibt; und
 - einer Kapselhülle (8) aus mehreren Schichten alternierend geladener Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten,
- 5
- wobei die Grundierungsschicht 6 aus einem Material besteht, das die Poren des porösen Kerns (4) verschließt und für die Beschichtungsmaterialien, aus denen die Kapselhülle (8) besteht, weitgehend undurchlässig ist.
- 10
13. CS-Partikel nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass die porösen Kerne (2) Poren mit einer Porenweite von 0,3 nm – 100 nm und bevorzugt von 1 nm – 30 nm aufweisen.
14. CS-Partikel nach Anspruch 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei
- 15
- den Kernen (2) um poröse organische und/oder anorganische Mikropartikel mit einem Durchmesser kleiner als 100 μm handelt.
15. CS-Partikel nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Kernen (2) um poröse Silicapartikel und/oder um poröse Zeolithpartikel
- 20
- und/oder um poröse Polystyrolpartikel handelt.
16. CS-Partikel nach einem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Kernen (2) um poröse Silicapartikel im Größenbereich von 100 nm bis 100 μm und bevorzugt von 500 nm bis 30 μm handelt.
- 25
17. CS-Partikel nach einem der Ansprüche 12 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Kernen (2) um poröse Zeolithpartikel mit einer Porenweite von 0,3 nm bis 10 nm handelt.
18. Mikrokapseln mit
- 30
- einem Durchmesser kleiner als 100 μm ;
 - einer Kapselhülle (8) aus mehreren Schichten alternierend geladener Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten;
 - einer Grundierungsschicht (6) an der Innenseite der Kapselhülle; und

- einem inneren Gerüst (16) aus Polyelektrolytkomplexen und/oder Polyelektrolyt/Nanopartikelkomplexen, das von der Grundierungsschicht und der Kapselhülle umgeben ist.

5

19. CS-Partikel oder Mikrokapseln nach einem der Ansprüche 12 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Grundierungsschicht (6) und die Kapselhülle (8) aus unterschiedlichen Materialien bestehen.

- 10 20. CS-Partikel oder Mikrokapseln nach einem der Ansprüche 12 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem zumindest einen Wirkstoff (4) um Proteine und/oder Polymere und/oder Enzyme und/oder Katalysatoren und/oder Farbstoffe und/oder Nanopartikel handelt.

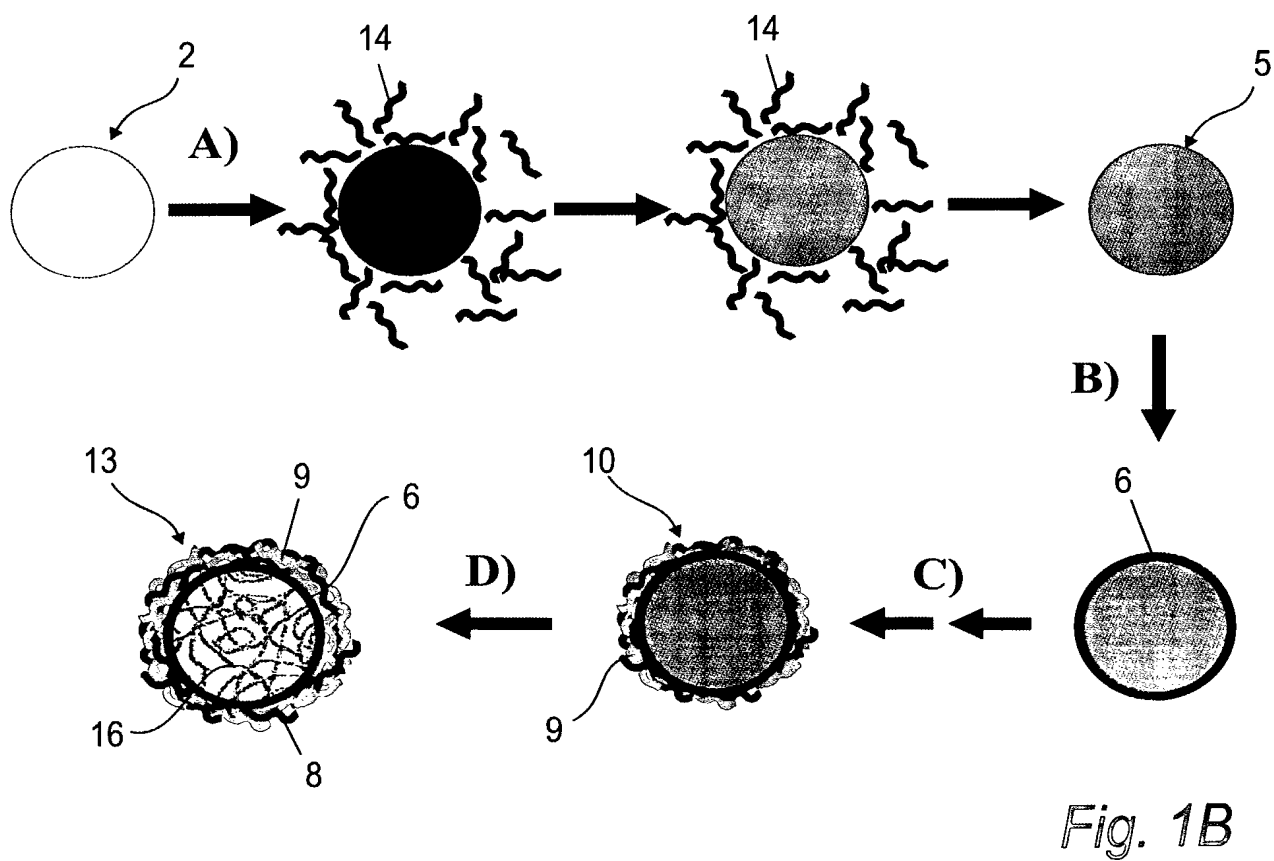
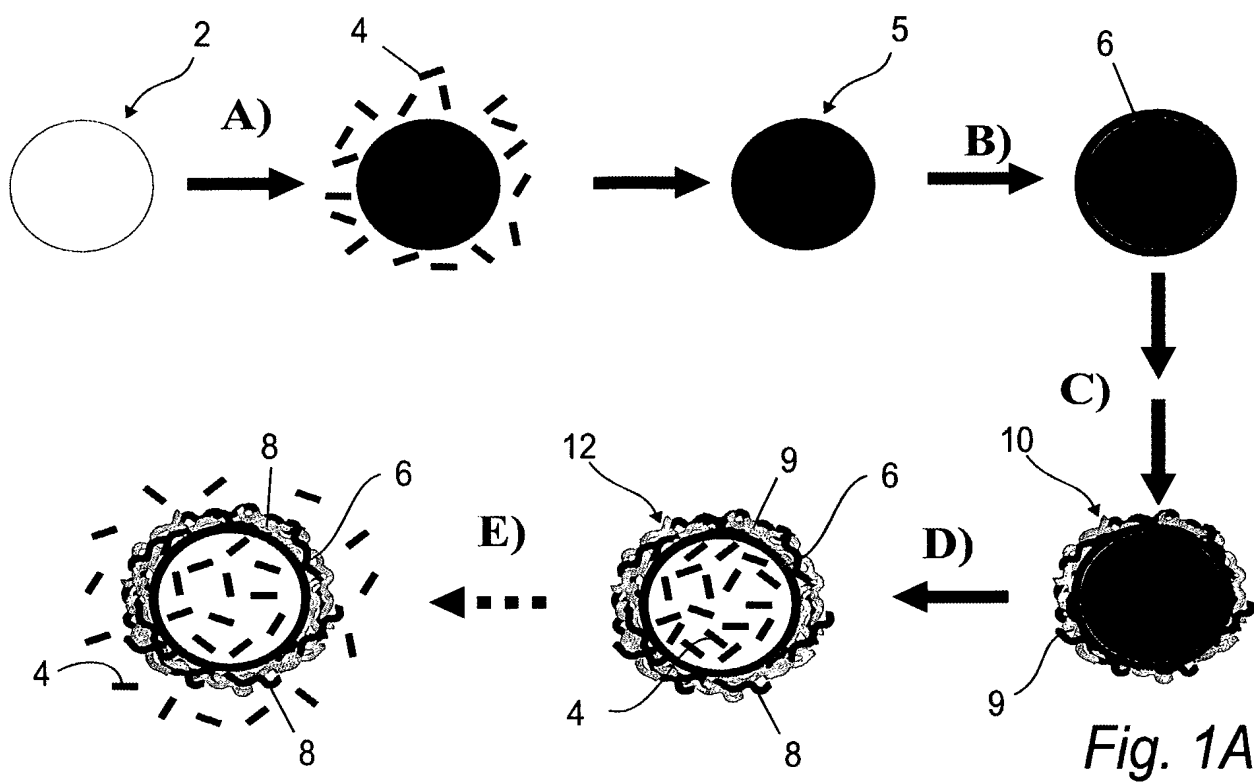
- 15 21. Verfahren zur Herstellung von Mikrokapseln mit den Schritten:

- zumindest ein poröses Templat (2) wird bereitgestellt, wobei es sich bei dem Templat (2) um ein poröses organisches und/oder anorganisches Mikropartikel mit einem Durchmesser kleiner als 100 µm handelt;
- die Oberfläche der Porenhohlräume des porösen Templates (2) wird mit
20 mehreren Schichten von alternierend geladenen Polyelektrolyten (14) und/oder Nanopartikeln (14) beschichtet;
- zumindest eine Grundierungsschicht (6) wird auf das poröse Templat (2) aufgebracht;
- eine Kapselhülle (8) wird um das mit der Grundierungsschicht (6) versehene
25 poröse Templat (2) durch Aufbringen von alternierend geladenen Polyelektrolyt- und/oder Nanopartikelschichten auf das poröse Templat gebildet, wobei die Grundierungsschicht (6) aus einem Material gebildet wird, das die Poren des porösen Templates (2) verschließt und für die zur Herstellung der Kapselhülle verwendeten Beschichtungsmaterialien weitgehend
30 undurchlässig ist; und
- das poröse Templat (2) wird aufgelöst.

22. Verwendung der CS-Partikel und/oder Mikrokapseln nach einem der Ansprüche 12 bis 20 und/oder Verwendung der nach einem der Ansprüche 1 bis 11 und 21 hergestellten CS-Partikel und/oder Mikrokapseln

- 5 - zur Verkapselung von Stoffen in den Bereichen der Diagnostik, Sensorik; und/oder
- zur selektiven Akkumulation von Stoffen aus Lösungen für Anwendungen in der Wasserreinigung, Diagnostik, Nuklearchemie etc.; und/oder
- zum Einschluss katalytisch wirkender Stoffe insbesondere Metalle und/oder Metalloxide und/oder Enzyme zur Katalyse chemischer und biochemischer
- 10 Reaktionen; und/oder
- zur Verkapselung von Nanopartikeln, insbesondere zur Herstellung fluoreszenter oder magnetischer Mikrokapseln, für diagnostische oder medizinische Anwendungen; und/oder
- zur Verkapselung und Freisetzung von Wirkstoffen in der pharmazeutischen
- 15 und kosmetischen Industrie; und/oder
- zu Separationszwecken, z.B. in der Chromatographie; und/oder
- zu Anwendungen in der Nahrungsmittelindustrie und der Land- und Forstwirtschaft.

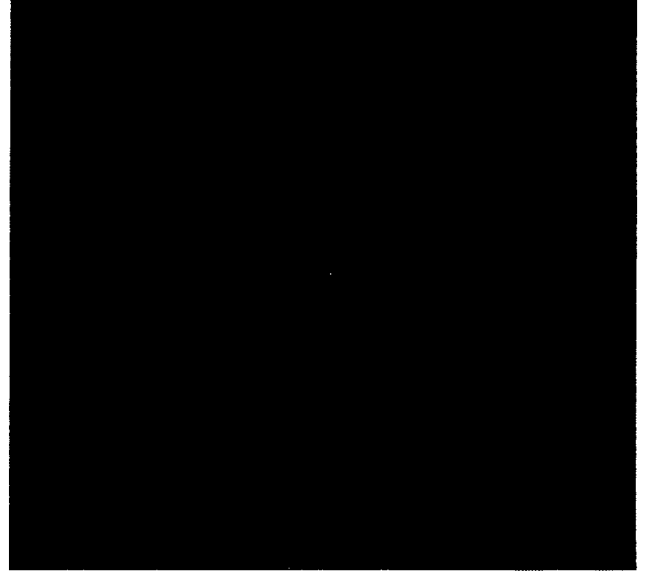
1/7



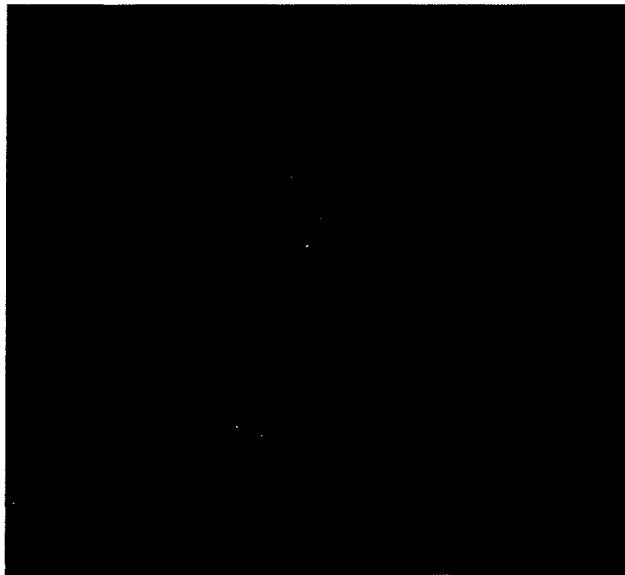
2/7



A



B



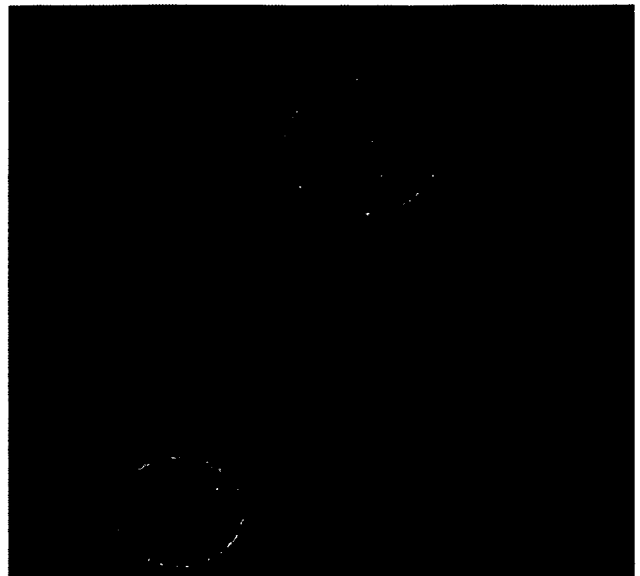
C

Fig. 2

3/7



A



B

Fig. 3



A



B

Fig. 4

4/7



A



B



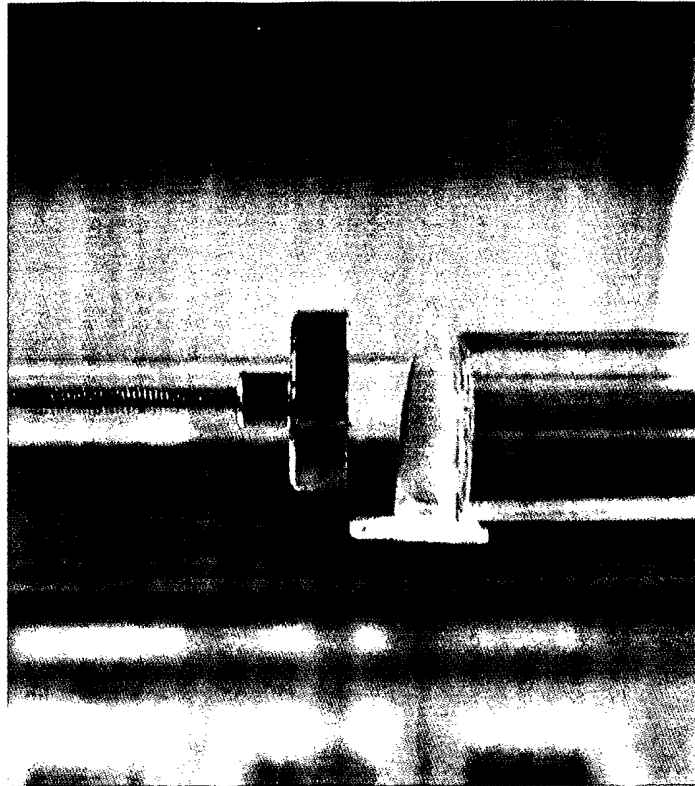
C



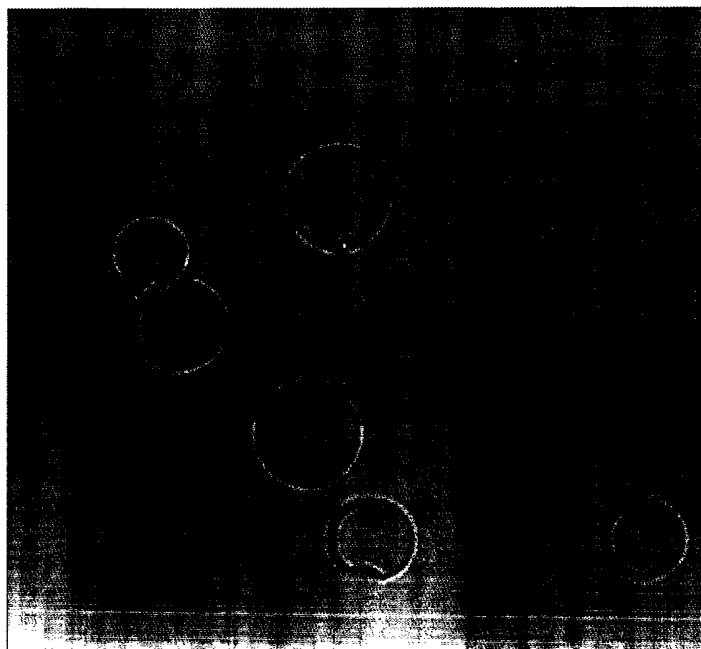
D

Fig. 5

5/7



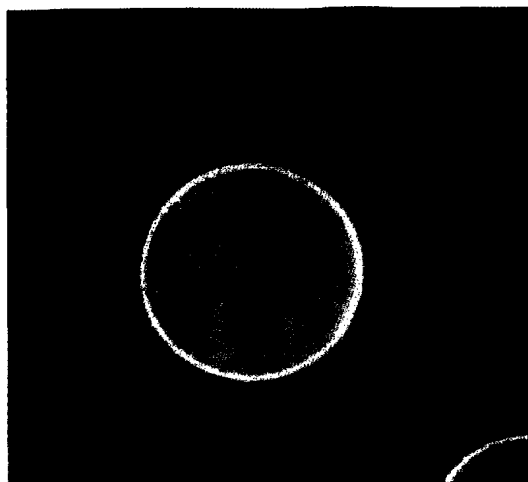
b)



a)

Fig. 6

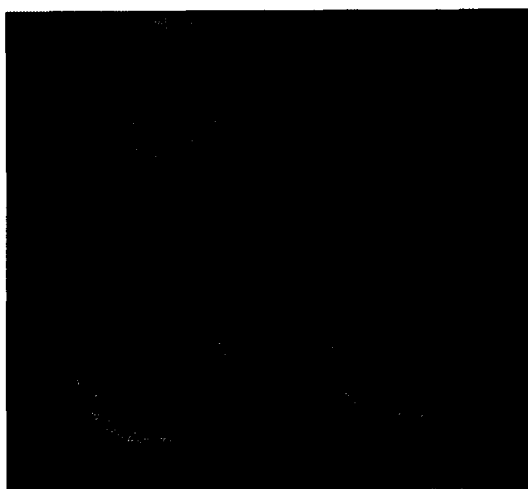
6/7



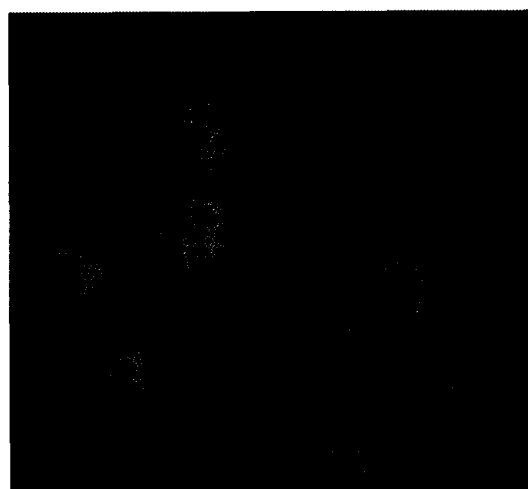
c)



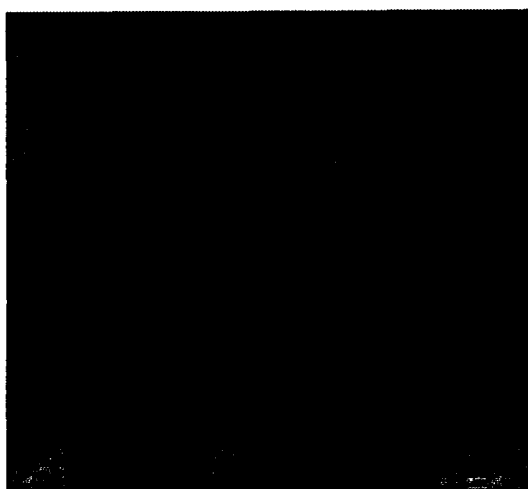
b)



a)



e)



d)

Fig. 7

7/7

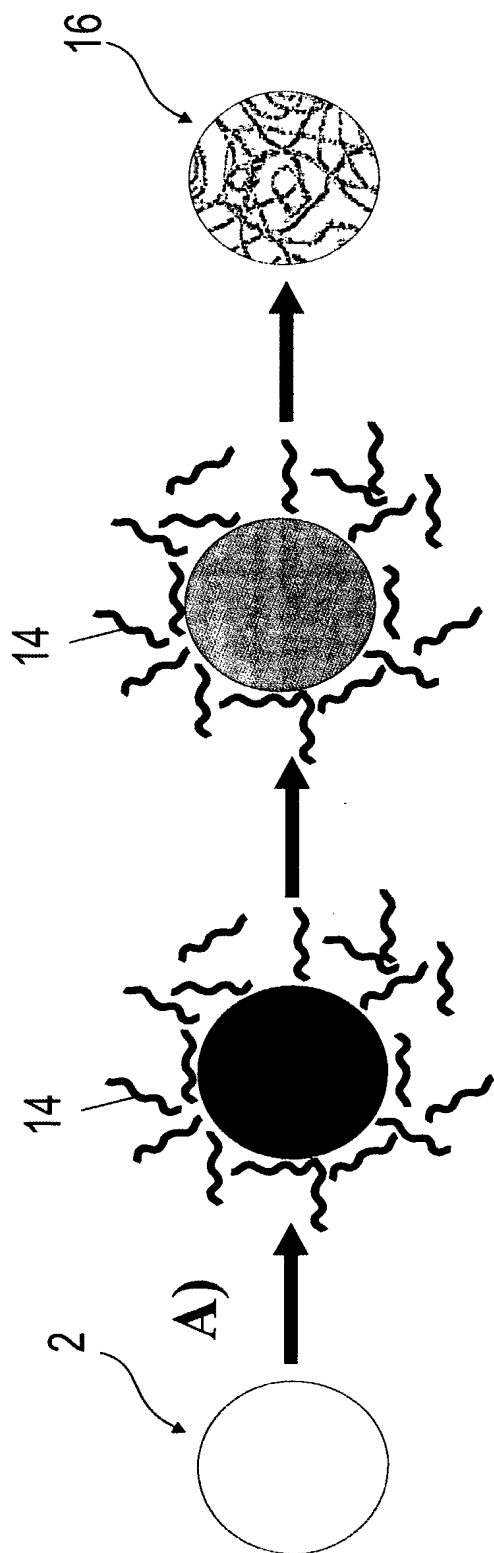


Fig. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/002810

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K9/50 B01J13/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K B01J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 03/090920 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN; KHOPADE, AJ) 6 November 2003 (2003-11-06) the whole document -----	1-22
A	US 2002/172716 A1 (WALT DAVID R ET AL) 21 November 2002 (2002-11-21) the whole document -----	1-22
A	WO 01/51196 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V; CARUSO,) 19 July 2001 (2001-07-19) the whole document -----	1-22
A	US 6 479 146 B1 (CARUSO FRANK ET AL) 12 November 2002 (2002-11-12) cited in the application claims -----	1-22
-/--		

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 August 2005

Date of mailing of the international search report

23/08/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Minas, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2005/002810

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 99/47252 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V; DONATH,) 23 September 1999 (1999-09-23) cited in the application the whole document	1-22
A	WANG, D. AND CARUSO, F.: "Polyelectrolyte-coated colloid spheres as templates for sol-gel reactions" CHEM. MATER., vol. 14, 2002, pages 1909-1913, XP002339641 the whole document	1-22

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/002810

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03090920	A	06-11-2003	AU 2003233068 A1 WO 03090920 A1	10-11-2003 06-11-2003
US 2002172716	A1	21-11-2002	AU 3978002 A WO 0241987 A2 US 2004219360 A1	03-06-2002 30-05-2002 04-11-2004
WO 0151196	A	19-07-2001	DE 10001172 A1 AT 291958 T DE 60109732 D1 WO 0151196 A1 EP 1116516 A1 EP 1246692 A1 JP 2003519565 T US 2002187197 A1	26-07-2001 15-04-2005 04-05-2005 19-07-2001 18-07-2001 09-10-2002 24-06-2003 12-12-2002
US 6479146	B1	12-11-2002	DE 19812083 A1 EP 0972563 A1 AT 228883 T DE 29924358 U1 DE 69904307 D1 DE 69904307 T2 WO 9947253 A1 WO 9947252 A2 EP 1064087 A2 EP 1064088 A1 JP 2002506719 T JP 2003522621 T US 2003219384 A1 WO 0003797 A1 EP 1098696 A1 JP 2002520151 T US 6699501 B1	30-09-1999 19-01-2000 15-12-2002 02-01-2003 16-01-2003 04-09-2003 23-09-1999 23-09-1999 03-01-2001 03-01-2001 05-03-2002 29-07-2003 27-11-2003 27-01-2000 16-05-2001 09-07-2002 02-03-2004
WO 9947252	A	23-09-1999	DE 19812083 A1 DE 19907552 A1 EP 0972563 A1 AT 228883 T DE 29924358 U1 DE 69904307 D1 DE 69904307 T2 WO 9947253 A1 WO 9947252 A2 EP 1064087 A2 EP 1064088 A1 JP 2002506719 T JP 2003522621 T US 2003219384 A1 US 6479146 B1 WO 0003797 A1 EP 1098696 A1 JP 2002520151 T US 6699501 B1	30-09-1999 31-08-2000 19-01-2000 15-12-2002 02-01-2003 16-01-2003 04-09-2003 23-09-1999 23-09-1999 03-01-2001 03-01-2001 05-03-2002 29-07-2003 27-11-2003 12-11-2002 27-01-2000 16-05-2001 09-07-2002 02-03-2004

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K9/50 B01J13/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K B01J

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 03/090920 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN; KHOPADE, AJ) 6. November 2003 (2003-11-06) das ganze Dokument -----	1-22
A	US 2002/172716 A1 (WALT DAVID R ET AL) 21. November 2002 (2002-11-21) das ganze Dokument -----	1-22
A	WO 01/51196 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V.; CARUSO,) 19. Juli 2001 (2001-07-19) das ganze Dokument -----	1-22
A	US 6 479 146 B1 (CARUSO FRANK ET AL) 12. November 2002 (2002-11-12) in der Anmeldung erwähnt Ansprüche ----- -/-	1-22



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

8. August 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23/08/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Minas, S

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 99/47252 A (MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT ZUR FOERDERUNG DER WISSENSCHAFTEN E.V; DONATH,) 23. September 1999 (1999-09-23) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument -----	1-22
A	WANG, D. AND CARUSO, F.: "Polyelectrolyte-coated colloid spheres as templates for sol-gel reactions" CHEM. MATER., Bd. 14, 2002, Seiten 1909-1913, XP002339641 das ganze Dokument -----	1-22

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/002810

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 03090920	A	06-11-2003	AU	2003233068 A1	10-11-2003
			WO	03090920 A1	06-11-2003
US 2002172716	A1	21-11-2002	AU	3978002 A	03-06-2002
			WO	0241987 A2	30-05-2002
			US	2004219360 A1	04-11-2004
WO 0151196	A	19-07-2001	DE	10001172 A1	26-07-2001
			AT	291958 T	15-04-2005
			DE	60109732 D1	04-05-2005
			WO	0151196 A1	19-07-2001
			EP	1116516 A1	18-07-2001
			EP	1246692 A1	09-10-2002
			JP	2003519565 T	24-06-2003
			US	2002187197 A1	12-12-2002
US 6479146	B1	12-11-2002	DE	19812083 A1	30-09-1999
			EP	0972563 A1	19-01-2000
			AT	228883 T	15-12-2002
			DE	29924358 U1	02-01-2003
			DE	69904307 D1	16-01-2003
			DE	69904307 T2	04-09-2003
			WO	9947253 A1	23-09-1999
			WO	9947252 A2	23-09-1999
			EP	1064087 A2	03-01-2001
			EP	1064088 A1	03-01-2001
			JP	2002506719 T	05-03-2002
			JP	2003522621 T	29-07-2003
			US	2003219384 A1	27-11-2003
			WO	0003797 A1	27-01-2000
			EP	1098696 A1	16-05-2001
			JP	2002520151 T	09-07-2002
			US	6699501 B1	02-03-2004
WO 9947252	A	23-09-1999	DE	19812083 A1	30-09-1999
			DE	19907552 A1	31-08-2000
			EP	0972563 A1	19-01-2000
			AT	228883 T	15-12-2002
			DE	29924358 U1	02-01-2003
			DE	69904307 D1	16-01-2003
			DE	69904307 T2	04-09-2003
			WO	9947253 A1	23-09-1999
			WO	9947252 A2	23-09-1999
			EP	1064087 A2	03-01-2001
			EP	1064088 A1	03-01-2001
			JP	2002506719 T	05-03-2002
			JP	2003522621 T	29-07-2003
			US	2003219384 A1	27-11-2003
			US	6479146 B1	12-11-2002
			WO	0003797 A1	27-01-2000
			EP	1098696 A1	16-05-2001
			JP	2002520151 T	09-07-2002
			US	6699501 B1	02-03-2004